Lane Medical Library

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Universität Giessen.
Direktor: Professor Dr. W. Zwick.

Vergleichende Untersuchungen über den Indolnachweis

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

bei der

Veterinärmedizinischen Fakultät

der

Hessischen Landes-Universität zu Gießen

eingereicht von

Otto Hoffmann
Tierarzt aus Stettin

Gießen 1931

Druck von Richard Glagow (vorm. Otto Meyer), Gießen, Ludwigstraße 30

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Universität Giessen.
Direktor: Professor Dr. W. Zwick.

Vergleichende Untersuchungen über den Indolnachweis

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

bei der

Veterinärmedizinischen Fakultät

der

Hessischen Landes-Universität zu Gießen

eingereicht von

Otto Hoffmann
Tierarzt aus Stettin

Gießen 1931

Druck von Richard Glagow (vorm. Otto Meyer), Gießen, Ludwigstraße 30

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinär-medizinischen Fakultät
zu Gießen.
Referent: Professor Dr. W. Zwick.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154005_0101

1. Teil.

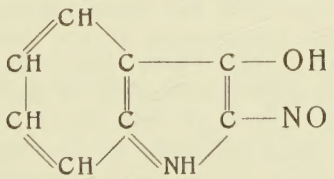
Literaturübersicht.

Die Indolreaktion wird als konstantes Merkmal für die Bestimmung einer zu untersuchenden Bakterienart diagnostisch verwertet. Neißer und Frieber (1923) betonen die unbedingte Spezifität dieser Reaktion und setzen sie als Differenzierungsmittel wegen ihrer Zuverlässigkeit und Schärfe der Gramfärbung an Wert fast gleich.

1. Geschichtlicher Überblick.

Bekannt wurde die Indolprobe zuerst als „Cholerarotreaktion", die auftrat nach Hinzufügen von Mineralsäuren (Salzsäure oder Schwefelsäure) zu Cholerabouillonkulturen (Poehl zitiert nach Lösener 1895, Bujwid 1887, Dunham 1887). Salkowski (1887) hat nachgewiesen, daß die Cholerarotrektion als Indolreaktion aufzufassen ist. Das durch das Wachstum der Cholerabakterien entstandene Ammoniak wird zu salpetriger Säure oxydiert (Salkowski 1887) oder vorhandene Nitrate werden zu Nitriten reduziert (Petri 1890). Die Cholera-Vibrionen bilden also sowohl Nitrit als auch Indol. Aus salpetriger Säure und dem Indolkern entsteht so unter dem Einfluß der zugesetzten Mineralsäure das Nitrosoindol, ein roter Farbstoff.

Nitrosoindol.



Dieser chemische Vorgang bildet die Grundlage von Salkowskis Indolreagens: zu 10 ccm Flüssigkeit gibt man 1 ccm einer 0,02%igen Kaliumnitritlösung und konzentrierte Schwefelsäure; bei Vorhandensein von Indol erfolgt Rotfärbung. Dieses Reagens mit seinen verschiedenen Modifikationen stand zwei Jahrzehnte lang an führender Stelle im Gebrauch für den Indolnachweis in der bakteriologischen Technik, bis Böhme im Jahre 1906 das von Ehrlich zum Nachweis von Indol im Harn angewendete Paradimethylamidobenzaldehyd auf Vorschlag von Neisser einführte. Dieses Aldehyd verbindet sich mit Indol zu einem komplexen Körper, dem Rosindol, einem roten Farbstoff, bei Beteiligung zweier

Moleküle Indol und eines Moleküls Aldehyd unter Wasseraustritt (Freund und Lebach 1903, Ehrlich zitiert nach Böhme 1906; nähere Angaben über den chemischen Aufbau des Rosindols finden sich bei Böhme 1906). Böhme gebraucht zwei Lösungen: 1. das in Salzsäure und Alkohol gelöste Aldehyd (Paradimethylamidobenzaldehyd 4,0, Alkohol 96 % 380,0, konzentrierte Salzsäure 80,0), 2. als Oxydationsmittel eine gesättigte wässerige Kaliumpersulfatlösung: Je 5 ccm beider Lösungen der Kulturflüssigkeit hinzugesetzt, ergeben bei Indolgegenwart Rotfärbung.

2. Empfindlichkeit der verschiedenen Indol-Reaktionen.

Die Reaktion nach Ehrlich-Böhme ist derjenigen nach Salkowski weit überlegen, besonders in Hinsicht auf Empfindlichkeit und Spezifität (Tobey 1908, Crossonini 1910, Huber 1910, Telle und Huber 1911, Steensma 1906, Zipfel 1912, Neisser 1921, Frieber 1922, Neisser und Frieber 1923, Wolters 1929), während Konrich (1910), der mit einer viel schwächeren Kaliumnitritlösung (0,005 %) arbeitet, die Salkowski-Reaktion der von Ehrlich-Böhme gleichstellt. Bongert (1927) erwähnt nur die Nitritreaktion. Die Empfindlichkeit beider Reaktionen ist vergleichsweise in reinen wässerigen Peptonwasser- und Bouillonindollösungen von Böhme (1906), Telle und Huber (1911), Crossonini (1910) und Zipfel (1912) geprüft worden. Eine Steigerung der Empfindlichkeit beider Reaktionen kann erreicht werden a) durch Anreicherung des gebildeten Farbstoffes in entsprechenden Lösungsmitteln und weiter b) durch eine zweckmäßige Auswahl der zu verwendenden Nährlösungen.

ad a) Löslichkeit des Farbstoffes: Nitrosoindol und Rosindol gehen beide leicht in Amylalkohol, das letztere außerdem gut in Chloroform und Essigäther über, während das Nitrosoindol in Chloroform sich nur mäßig löst. Schwefeläther ist für beide Farbstoffe ein minderwertiges Lösungsmittel (Poehl zitiert nach Lösener 1895, Telle und Huber 1911, Zipfel 1912). Besonders bei der weniger empfindlichen Salkowski-Reaktion ist das Ausschütteln mit Amylalkohol angezeigt (Lösener 1895, Konrich 1910, Neisser 1921). Indessen ist bei beiden Reaktionen auf einwandfreien reinen Amylalkohol wert zu legen, weil er sowohl mit Schwefelsäure (Furfurol) als auch mit Ehrlich's Aldehyd und Salzsäure eine Rotfärbung hervorrufen kann, um so eine Indolfarbreaktion vorzutäuschen. (Steensma 1906, Telle und Huber 1911, Zipfel 1912).

ad b) Nährlösungen: Die Gegenwart von Pepton in den Nährlösungen ist für die Indolbildung unbedingt erforderlich (Dunham 1887, De Graaff 1909, Zipfel 1912, Neisser 1921). Wölfel (1912) empfielt 2 %ige, Wolters (1929) 1—3 %ige Peptonlösungen. Selter (1909) hat mit 5 %iger Peptonkochsalzlösung bei 5tägiger Bebrütung ein gutes Ergebnis erzielt, desgleichen bei Anwendung 10 %iger wässeriger Peptonsalzlösungen; indessen tritt bei so hoher Peptonkonzentration leicht eine

störende Eigenfarbe der Nährlösung auf. Nach Wolters' Untersuchungen ist das Pepton „e carne spissum" Merck das beste, dann folgten Pepton Witte und Riedel. Salus (1922) lobt die Hottingerbrühe, hergestellt mit Trypsin statt Pankreatin der Originalvorschrift. Ebenso hält Baerthlein die Hottingerbrühe für ein geeignetes Nährmedium. Die Notwendigkeit einer farblosen Nährflüssigkeit betont Zipfel (1912). Er stellte eine wasserklare, eiweißfreie tryptophanhaltige Nährlösung her, da indolpositive Bakterien nach den neueren chemischen Forschungsergebnissen das in Pepton enthaltene Tryptophan (Indolalanin) über Indolessigsäure zu Indol abbauen (Ellinger, Flamand, Abderhalden zit. nach Zipfel 1912). Pringsheim (1919) stellte seine tryptophanhaltige Spezialnährlösung durch Vorverdauung von Pepton mit Hilfe des Bacterium mesentericum vulgare her und Frieber (1921) durch die proteolytische Trypsinwirkung aus Peptonbouillon. Die Empfindlichkeit der Indolreaktion wird bei Verwendung tryptophanhaltiger Spezialnährlösungen erheblich gesteigert (Zipfel 1912, Pringsheim 1919, Neisser-Frieber 1923, Wolters 1929).

Die Empfindlichkeit der Ehrlich-Böhmeschen Reaktion wird vermehrt sowohl durch Zugabe kleinster Nitritmengen (Steensma 1906, Neisser 1921) als auch durch Steigerung der Aldehydkonzentration (Zipfel 1912). Pringsheim (1919) arbeitet mit einer 5%igen Aldehydlösung, Frieber (1921) desgleichen, aber ohne Zusatz von Kaliumpersulfat, womit er die Feststellungen von Tobey (1908) und Crossonini (1910), daß das Oxydationsmittel nicht notwendig ist, bestätigt. Beim Überschichten des Aldehydreagens erhält man durch die auftretende Ringbildung eine schärfere Reaktion (Tobey 1908, Crossonini 1910, Zipfel 1912). Kovács (1928) verbindet in seinem Reagens die Ehrlich-Böhmesche Aldehydreaktion mit der den Farbstoff extrahierenden Wirkung des Amylalkohols, indem er den Äthylalkohol der Originalvorschrift durch Amylalkohol ersetzt.

Die Empfindlichkeit der Indolreaktion kann erheblich herabgesetzt oder die Indolbildung sogar gänzlich eingestellt werden bei Gegenwart gewisser Zuckerarten im Nährsubstrat (Kruse, Wyeht zit. nach Heim 1922, de Graaf 1909, Selter 1909, Neisser und Frieber 1923). Nach A. Fischer (1915) hemmt besonders die Glukose bereits bei einem Gehalt von 0,225% die Reaktion vollständig, während Laktose bei weitem nicht die Wirkung der Glukose erreicht. Die Indolbildung bleibt ganz oder teilweise aus bei Anwesenheit von Kohlehydraten, die von den betreffenden Bakterien gespalten werden können (Neisser und Frieber 1923, Takats 1928). Aus Traubenzucker entstandene Milchsäure, die nach früherer Ansicht die Hemmung der Reaktion bedingen sollte, übt auf die Indolbildung keine hemmende Wirkung aus, denn Indol tritt noch bei stark saurer Gärung nach Aufspaltung sämtlichen Traubenzuckers auf (Logie zit. nach Gotschlich 1929). In Zipfels Nährlösung hat Trauben- oder Milchzuckergehalt

bei je 1,5% keinen Einfluß auf die Indolbildung (Zipfel 1912). Zu hoher Nitritgehalt stört die Reaktion (Lösener 1895).

3. Spezifität der Indol-Reaktion.

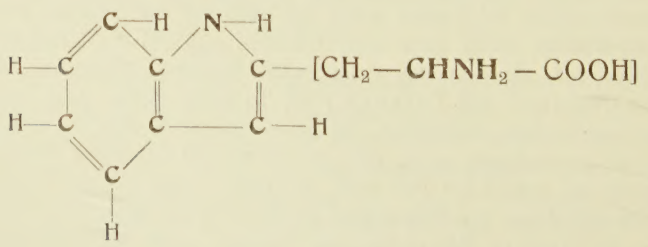
Die Original-Salkowski-Reaktion veranlaßte infolge ihrer widersprechenden Ergebnisse die verschiedensten Variationen. Besonders die bei Anwendung konzentrierter Schwefelsäure oft auftretende braune bis schwärzliche Färbung, die eine schwache Rotfärbung verdeckt, führte zur Anwendung der Schwefelsäure in schwächeren Konzentrationen (Mac Farland and Small 1908, Konrich 1910, Schröder und Gutjahr 1911, Zipfel 1912); außerdem kann die konzentrierte Schwefsäure bei Anwesenheit von Indol und Nitraten durch Reduktion eine Nitrosoindolbildung künstlich herbeiführen (Gotschlich 1929). Die Unzuverlässigkeit der Salkowski-Reaktion (Tobey 1908, Burri und Andrejew 1910) bildete die Veranlassung, das in Wasserdampf flüchtige Indol im Destillat nachzuweisen (Lösener 1895, Steensma 1906, Crossonini 1910, Salus 1922).

Daß die Salkowski-Reaktion unspezifisch ist, haben Neisser und Frieber (1921, 1923) dargelelegt. Danach bauen auch Indolnegative Bakterien das Tryptophan ab (auch von Herzfeld und Klinger 1915 berichtet), jedoch nur bis zur Indolessigsäure, indem sie die Aminogruppe des Alanins angreifen. Salkowskis Reagens gibt aber bereits mit Indolessigsäure Rotfärbung, ist also kein spezifisches Indolreagens. Die indolpositiven Bakterien dagegen vermögen den weiteren Abbau des verbliebenen Kohlenstoffes des Alanins vorzunehmen bis zur Entstehung des Indols; die indolpositiven Bakterien haben also die Fähigkeit, vom Stickstoff-Stoffwechsel zum Kohlenstoff-Stoffwechsel überzugehen (Frieber 1922). Ehrlichs Reagens hingegen ist ein spezifisches Indolreagens (Neisser und Frieber 1923).

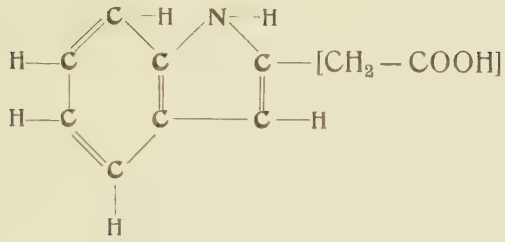
Abbau des Tryptophans durch indolpositive Bakterien. (nach Frieber)

Tryptophan oder Indolanin (Alanin = α-aminopropionsäure)

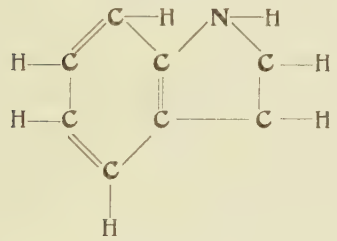
$$C_8H_6[CH_2-CHNH_2-COOH]-N$$



Indolessigsäure.
$C_8H_6[CH_2-COOH]N$



Indol = $C_8H_7 \cdot N$ oder Benzopyrrol.



In Bakterienkulturen können Skatol und Skatolaminoessigsäure mit dem Ehrlichschen Aldehyd eine vorübergehende Rotfärbung hervorrufen, die aber bald in flüchtiges Blau umschlägt oder in Chloroform ausgeschüttelt Blaufärbung ergibt (Böhme 1906, Zipfel 1912); hierdurch wurden Steensma (1906) und Porcher und Panisset (1909) veranlaßt, die Reaktion im Aetherextrakt anzustellen. Bei genauer Befolgung der Technik ist eine Verwechselung mit Skatol nicht zu befürchten (Böhme 1906).

4. Beurteilungen der verschiedenen Indolreaktionen in der Literatur.

Die Ansichten über Vorzüge und Nachteile der neueren Versuchsanordnungen gehen bei den einzelnen Autoren auseinander. Wolters (1929) empfiehlt Friebers Trypsinbouillon mit dem modifizierten Böhme-Reagens nach Pringsheim (1919: 5%ige Aldehydlösung mit Kaliumpersulfat), und Zipfel (1912: getrennten Zusatz von 2%iger Aldehydlösung und Salzsäure); er konnte mit dieser Methode endgültig nach 24 Stunden Indolbildung sicher nachweisen oder ausschließen;

dieser Nachweis ist ihm auch schon nach 2 — 3stündiger Bebrütung gelungen. Standfuß und Lehr (1928) arbeiten mit Zipfels Verfahren in der Abänderung nach Abel-Olsen, die darin besteht, daß die Tryptophannährlösung von Zipfel mit Böhmes Aldehydlösung überschichtet wird; Standfuß und Lehr ziehen diese Anordnung sowohl der Neisserschen (Färben der ganzen Flüssigkeit) als auch der Kovácsschen Modifikation vor. Während Neisser-Frieber (1923) und Wolters (1929) die Zipfelsche Nährlösung als nicht in jedem Falle für geeignet ansehen, haben Standfuß und Lehr (1928) mit ihrer Versuchsanordnung auch bei schwachen Indolbildnern („Intermedius") regelmäßig nach 24 Stunden eine positive Reaktion erhalten, mit der Neisserschen dagegen negative oder später einsetzende Reaktionen. Die Kovácssche Methode, welche nach Kovács (1928) auch in gewöhnlicher Bouillon gute Ergebnisse liefert, versagt nach Lehr (1929) bei schwachen Indolbildnern nach Züchtung in gewöhnlicher Pepton-Fleischbrühe vollkommen, und auch in besonderen Indolnährböden gelingt der Nachweis nur unvollkommen und unsicher. Thoemke (1929) gibt der Kovácsschen Modifikation den Vorzug vor der Zipfelschen.

5. Weniger gebräuchliche Indolreaktionen.

Auch andere Aldehyde gehen mit Indol Farbverbindungen ein (Ehrlich zitiert nach Böhme 1906). Nach Wolters ist die Furfurolmethode von Escallon und Sicre (1908) (Furfurol = Furanaldehyd Arnold 1923 — 2%ige alkoholische Furfurollösung plus Salzsäure ergibt bei Indolgegenwart orange-gelbe Farbe — „ebenfalls spezifisch für Indol und zum Indolnachweis geeignet". Blumenthal hat eine Zimtaldehydreaktion angegeben (zitiert nach Zipfel 1912, Wolters 1929). Morelli 1929 hat die Reaktion nach Crisafulli, Rotfärbung von Tannenholzstückchen ohne Rinde in mit Salzsäure angesäuerter Fleischbrühe bei Gegenwart von Indol, abgeändert als neue Methode empfohlen, indem mit Oxalsäure getränkte Fließpapierstückchen bei Anwesenheit von Indol Rotfärbung annehmen. Konrich (1910) hält dieses Verfahren für unbrauchbar.

Zu erwähnen ist noch die Legalsche Nitroprussidnatriumreaktion, modifiziert von Zinno (1894) und Antonoff (1907), die als eine Kreatininreaktion aufzufassen ist. Nach Böhme (1906) kann die Reaktion zu Verwechselungen Anlaß geben; nach Lösener (1895) tritt die Reaktion bei Anwesenheit von Indol stets ein. Steensma (1906) bemängelt eine Farbänderung bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff. Zipfel (1912)

sieht das abgeänderte Verfahren nach Antonoff als eine scharfe eindeutige Indolreaktion an, die nach Wolters (1929) zuverlässig für Colikulturen ist.

2. Teil.

Eigene Versuche.

Die in der Literatur bestehenden Widersprüche über die Vor- und Nachteile verschiedener neuerer Reagentien und Nährsubstrate für den Indolnachweis (Standfuß und Lehr 1928, Lehr 1928, Neisser und Frieber 1923, Zipfel 1912, Kovács 1928, Wolters 1929, Thoemke 1929) waren die Veranlassung, die wichtigsten Reagentien und Nährmedien auf ihre Brauchbarkeit für den Indolnachweis zu prüfen. Da eine Indolreaktion durch Extraktion des sich bildenden Farbstoffes in einem entsprechenden Lösungsmittel an Schärfe gewinnt, war es notwendig, vorher das geeignetste Anreicherungsmittel festzustellen.

I. Vorversuche.

1. Prüfung der Löslichkeit des Rosindols in verschiedenen Lösungsmitteln.

Um die Löslichkeit des bei Gegenwart von Indol unter Zusatz des Ehrlich-Böhmeschen Aldehydreagens sich bildenden roten Farbstoffes, des Rosindols, zu prüfen, sind reine Indollösungen in destil. Wasser in Verdünnungen von 1 : 100 000 und 1 : 500 000 in Röhrchen zu je 5 ccm gefüllt, mit 0,25 ccm der Frieberschen Modifikation des Böhmeschen Reagens (Zusammensetzung unter *2* d) versetzt und mit 1 ccm folgender Lösungsmittel ausgeschüttelt worden:

a) Amylalkohol puriss. Merck,
b) Normalbutyalkohol, Butanol, I. G. Farbenindustrie,
c) Chloroform,
d) Essigäther,
e) Benzol,
f) Äther.

Zu beachten ist hierbei, daß das Lösungsmittel nicht mit dem Reagens bereits eine Reaktion, Rotfärbung, liefert, was bei Verwendung nicht ganz reinen Amylalkohols leicht eintreten kann (Steensma 1906, Telle und

Huber 1911, Zipfel 1912); ich habe selbst bei meinen Versuchen derartige unspezifische Reaktionen mit einem Amylalkohol, der für die Versuche ungeeignet war und deshalb ausgeschaltet wurde, erhalten.

Amylalkohol und Butanol färben sich sofort in den niedrigeren Indol-Verdünnungen kräftig rot, in der hohen Verdünnung schwach hellrot; die Farbe wird nach einer halben Stunde kräftiger, das Indolwasser farblos.

Chloroform ist ein schlechteres Lösungsmittel für Indol als die beiden erstgenannten; es färbt sich anfangs nur hellviolett und zeigt erst später, nach 3—4 Stunden, hellrote Farbe. Das Indolwasser wird nicht ganz entfärbt.

Essigäther und Benzol bleiben sogleich nach dem Schütteln fast farblos; nach Verlauf einer halben Stunde nehmen beide einen hellroten bezw. hellrosa Farbton an. Benzol versagt in den hohen Verdünnungen vollständig.

In Äther löst sich Indol nicht.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß Amylalkohol und Butanol als Lösungs- und Anreicherungsmittel des Rosindols fast gleichwertig und am besten geeignet sind, da die deutlich erkennbare Lösung des Indols sofort auch in hohen Verdünnungen stattfindet. Hervorzuheben ist die scharfe Abgrenzung des rotgefärbten Alkohols gegenüber der indolhaltigen Flüssigkeit. Dem Butanol wird insofern der Vorzug gegeben werden, als es bedeutend billiger ist als Amylalkohol (½ kg Butanol = 0,80 ℳ, ½ kg Amylalkohol = 6,00 ℳ), zudem ist die Lösung im allgemeinen vollständiger und klarer, die Reaktion deutlicher als in Amylalkohol. Weiterhin besteht beim Amylalkohol die Gefahr, daß durch unreine Präparate Fehlreaktionen eintreten.

An zweite Stelle tritt das Chloroform, danach der Essigäther und das Benzol. Die zuletzt genannten Lösungsmittel kommen für den praktischen Indolnachweis nicht in Frage, da sie gegenüber dem Butylalkohol und dem Amylalkohol wesentlich schlechtere Ergebnisse liefern oder als Lösungsmittel ganz versagen.

2. Vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Methoden zum Indolnachweis.

Um die für den Indolnachweis empfindlichsten Reagentien zu bestimmen, wurden Indollösungen in steigenden Verdünnungen mit verschiedenen Reagentien beschickt. Verwandt wurden Lösungen von reinem Indol (Indol cryst. Merck) in

destil. Wasser und in 1 %iger Peptonbouillon, jedes Reagenzröhrchen mit 5 ccm gefüllt, dazu die folgenden Reagentien:

a) Salkowskis Reagens in der Abänderung nach Olsen (1927): ½ ccm einer 0,01 %igen Kaliumnitritlösung und ½ ccm Schwefelsäure (1 : 3 aqua dest.). In dieser Abänderung ist der in der Literatur erwähnte geringere Nitritgehalt und die Verdünnung der konzentrierten Schwefelsäure berücksichtigt.

b) Die Modifikation des Ehrlich-Böhmeschen Aldehydreagens nach Tobey (1908) und Crossonini (1910): Überschichten mit 1 ccm der Ehrlich-Böhmeschen Lösung 1:

Paradimethylamidobenzaldehyd Merck	1,0
Alkohol 96 %	95,0
konzentrierte Schwefelsäure	20,0

c) Die Modifikation des Ehrlich-Böhmeschen Reagens nach Zipfel (1912):

Paradimethylamidobenzaldehyd	1,0
Alkohol 96 %	50,0

Überschichten mit 1 ccm dieser Lösung, dazu tropfenweise konzentrierte Salzsäure (spez. Gew. = 1,16).

d) Die Modifikation des Ehrlich-Böhmeschen Reagens nach Frieber (1921):

Paradimethylamidobenzaldehyd	5,0
Alkohol 96 %	50,0
konzentrierte Salzsäure	50,0

10 Tropfen dieser Lösung der Flüssigkeit zusetzen.

e) Die Modifikation des Ehrlich-Böhmeschen Reagens nach Kovács:

Paradimethylamidobenzaldehyd	5,0
Amylalkohol puriss.	75,0
konzentr. Salzsäure (spez. Gew. = 1,16)	25,0

Überschichten mit 1 ccm dieser Lösung, das Reagensröhrchen mehrmals bis zur Wagerechten neigen, nicht schütteln, da sonst Trübung des Reagens entsteht.

f) Wie Reagens nach Kovács; jedoch wurde Butanol statt Amylalkohol angewandt.

g) Furfurolreagens nach Escallon und Sicre (1908): ½ ccm einer 2 %igen Furfurollösung, dazu tropfenweise Salzsäure.

h) Nitroprussidnatriumreagens in der Modifikation nach Antonoff (1907):

Zur Flüssigkeit wurde hinzugesetzt: 1 ccm einer 15 %igen Ätznatronlösung, darauf 7 Tropfen einer frisch bereiteten 10 %igen Nitroprussidnatriumlösung; Auftreten einer rubinroten Farbe, die nach 1—5 Minuten in eine strohgelbe übergeht; nach Ansäuern mit Essigsäure wird die Flüssigkeit grünlich und allmählich blau.

Der Ausfall der Stärke der Reaktionen nach Salkowski sowie nach Ehrlich-Böhme und deren Modifikationen ist nach folgendem Schema ausgedrückt:

++++	sehr stark positiv: kräftig leuchtend rot
+++	stark positiv: leuchtend rot
++	gut positiv: deutlich weinrot
+	deutlich positiv: schwache, aber deutliche Rötung
±	schwach positiv: sehr schwache, gerade noch erkennbare Rötung
–	negativ: keine Farbänderung gegenüber den Kontrollröhrchen (Rötung).

Die Original Ehrlich-Böhmesche Methode ist nicht angewandt worden, weil aus der Literatur übereinstimmend hervorgeht, daß die Kaliumpersulfatlösung als Oxydationsmittel nicht notwendig ist (Tobey 1908, Crossonini 1910, Zipfel 1912, Frieber 1922), und daß höhere Aldehydkonzentrationen bessere Ergebnisse zeitigen als die ca. 1%ige Originallösung. Zwecks Kontrolle der Versuche dienten Röhrchen mit reiner Bouillon und destil. Wasser, zu denen dieselben Reagentien gegeben wurden.

ad a: Durch die Zugabe des Nitritreagens nach Salkowski färbt sich die indolhaltige Flüssigkeit rot bis rosa je nach dem Verdünnungsgrad. In destil. Wasser ist Indol bei einer Verdünnung von 1 : 200 000, mit Amylalkohol ausgeschüttelt bei 1 : 900 000, noch deutlich nachweisbar. Nach 4 Stunden zeigt sich die Reaktion in den hohen Verdünnungen deutlicher. In Bouillon kann mit diesem Reagens Indol in Verdünnungen von 1 : 100 000, mit Amylalkohol ausgeschüttelt in solchen von 1 : 300 000, nachgewiesen werden.

ad b und c: Bei den Überschichtungsmethoden nach Tobey-Crossonini sowie Zipfel tritt an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten ein rotvioletter Ring auf, der in den Indollösungen in destil. Wasser bei ersteren in Verdünnungen von 1 : 300 000, bei letzteren in solchen von 800 000, in Bouillon in Verdünnungen von 1 : 400 000 bezw. 1 : 200 000 nachzuweisen ist.

ad d: Durch die Friebersche Modifikation des Ehrlichschen Reagens wird das Indolwasser hellviolett gefärbt. Dieser Farbton ist in den geringeren Indol-Verdünnungen nicht viel

intensiver als in den höheren. In Bouillon wird der helle Farbton durch ihre Eigenfarbe schon bei einer Verdünnung von 1 : 200000 fast völlig überdeckt. Nach 2 — 4 Stunden wird die Friebersche Reaktion deutlicher. In destil. Wasser dagegen ist in Verdünnungen von 1 : 5000000 noch ein blassvioletter Farbton besonders bei Betrachten von oben beobachtet worden.

ad e und f: Die amylakoholische und butylalkoholische Aldehydlösung (von heller, durchsichtiger, schwach grüngelblicher Eigenfarbe) färbt sich nach dem Überschichten dunkel- bis hellrot, je nach dem Verdünnungsgrade des Indols. Positive Reaktionen habe ich in destil. Wasser in Verdünnungen des Indols von 1 : 900000, in Bouillon in solchen von 1 : 700000 erhalten.

ad g: Die Furfurollösung gibt mit Indol bei Verdünnungen von 1 : 100000 eine braungelbe Farbe, deutlich nach einer halben Sunde; in höheren Verdünnungen überdeckt die Eigenfarbe der Bouillon die schwach auftretende Reaktion, so daß man zum Vergleich eine Kontrollreaktion mit reiner Bouillon heranziehen muß.

ad h: Bei Verdünnungen von 1 : 100000 tritt bei der Nitroprussidnatriumreaktion nach Hinzusetzen der Essigsäure Grünfärbung ein, die nach 12—24 Stunden in der Bouillon in blau umschlägt. In höheren Verdünnungen färbt sich die Bouillon nach Zugabe der Essigsäure schmutzig braungelb, später grün wie die Kontrolle ohne Indolzusatz; das Indolwasser nimmt braungelbe, dann gelbe Farbe an, wie die Kontrolle mit reinem destil. Wasser. Im Gegensatz zu dem schlechten Ergebnis dieser Reaktion in reinen Indollösungen steht das bessere in Peptonwasserkulturen. In der von Antonoff angegebenen 2%igen Peptonwasserlösung sind 6 Stämme (3 Coli- und 3 Geflügelcholera) nach 24 stündigem Brutschrankaufenthalt und darauf folgender 1 stündiger Sterilisation im strömenden Dampf auf Indol geprüft worden. Die 6 Stämme reagieren positiv. Blaufärbung tritt allmählich nach 12 Stunden ein; die unbeimpfte Kontrolle zeigt nach Zusatz der Reagentien hellgelbe Farbe.

Die übrigen mit den verschiedenen Reagentien angesetzten Kontrollen in aqua destillata und reiner Bouillon haben keinerlei Veränderungen gezeigt.

Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß das Salkowski-Reagens in der Abänderung nach Olsen, mit Amylalkohol ausgeschüttelt, eine hohe Empfindlichkeit für den Indolnachweis besitzt. Die Überlegenheit des Ehrlich-Böhmeschen Aldehydreagens in seinen Modifikationen zeigt sich jedoch besonders bei An-

Tabelle 1.

Indollösungen in:	Versuche von: Böhme (1906) Salkowskis Reaktion	Böhme (1906) Ehrlichsche Reaktion	Telle-Huber (1911) Salkowskis Reaktion	Telle-Huber (1911) Ehrlichsche Reaktion	Crossonini (1910) Salkowskis Reaktion	Crossonini (1910) Ehrlichsche Reaktion	Zipfel (1912) Salkowskis Reaktion	Zipfel (1912) Ehrlichsche Reaktion	Thoemke (1929) Ehrlich nach Zipfel	Thoemke (1929) Ehrlich nach Kovács	Methode	Eigene Versuche mit: Salkowskis Reagens Olsen	Salkowskis Reagens Olsen ausgeschüttelt	Ehrlichs Reagens Tobay Crossonini	Ehrlichs Reagens Zipfel	Ehrlichs Reagens Frieber	Ehrlichs Reagens Kovács
Aqua destillata	Indol ist nachweisbar bis zu einer Verdünnung von: 1/100 000	1/1 000 000	1/200 000	1/2 000 000	1/200 000	1/5 000 000	1/1 000 000	1/4 000 000	1/800 000 (±)	1/800 000 (±)		Indol ist nachweisbar bis zu einer Verdünnung von: 1/200 000 (+)	1/900 000 (+)	1/900 000 (+)	1/900 000 (+)	1/1 000 000 (+)	1/300 000 (+)
Bouillon			1/75 000	1/200 000					1/200 000 (+)	1/800 000 (±)		1/200 000 (+)	1/300 000 (+)	1/400 000 (+)	1/200 000 (+)	1/200 000 (±)	1/700 000 (+)

Vorversuch 2: Vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Methoden zum Indolnachweis. (Seite 15).

Erklärung der Zeichen der eigenen Versuche: Seite 14.

wendung in Bouillon, wobei die Modifikation nach Kovács (amyl- bezw. butylalkoholische Lösung des Aldehyds) an erster Stelle steht (1 : 700000), da hier spezifische Reaktionswirkung und Farbstoffextraktion in einem Reagens vereinigt sind, außerdem setzt die Eigenfarbe der Kulturflüssigkeit die Schärfe dieser Reaktion in keiner Weise herab. Dann folgen die Überschichtungsmethoden von Tobey-Crossonini (1 : 400000) und Zipfel (1 : 200000), danach Friebers Reagens.

Die Furfurolreaktion ist in höheren Verdünnungen wegen der gelben Farbe der Reaktion schlecht zu beurteilen.

Der Nitroprussidnatriumreaktion nach Antonoff kommt wegen des umständlichen Verfahrens eine praktische Bedeutung nicht zu.

3. Prüfung verschiedener Nährmedien auf ihre Eignung für die Anstellung des Indolnachweises.

Da nach der Literatur gute Indolreaktionen in gewöhnlicher Bouillon erzielt werden können (Fazakas 1926 in Martinbouillon, Kovács 1928 und Thoemke 1929 in gewöhnlicher Bouillon), sind außer Spezialnährlösungen verschiedene Fleischbrühen in diese Versuchsreihe aufgenommen. Es sind auf ihre Eignung für die Anstellung des Indolnachweises geprüft worden:

1. Die Trypsinbouillon nach Frieber 1921,
2. die Nährlösung nach Zipfel 1913,
3. die Martinbouillon (Bongert 1927),
4. die Hottingerbrühe (Hottinger 1913),
5. die 1%ige Witte-Peptonbouillon,
6. die 1%ige Reil-Peptonbouillon (Lücke 1928).[1])

Herstellung der Nährlösungen.

Trypsinbouillon nach Frieber (1921): 5 g Fleischextrakt, 5 g Kochsalz, 7 ccm n. Sodalösung ab Lackmusneutralpunkt werden zu einem Liter einer 1%igen Witte-Peptonlösung gegeben, aufkochen lassen, nach Abkühlung auf 40° C 0,2 g Trypsin, 10 ccm Chloroform und 5 ccm Toluol hinzusetzen, 24 Stunden Brutschrankaufenthalt, dann 4fach

[1]) Herrn Dr. Reil, sowie der Gesellschaft für Seuchenbekämpfung, A.-G., Frankfurt a. M.-Niederrad, sei auch an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Peptons gedankt.

(1 + 3) mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnen; die Bouillon besitzt hellgelbe Eigenfarbe.

Eiweißfreie Nährlösung nach Zipfel (1913):

Zu 1 Liter destill. Wasser fügt man:

Tryptophan (Merck)	0,3
Ammon. lactic.	
Kal. phosphoric. sec. aa	5,0
Magnes. phosphoric	0,3

10 ccm Nährlösung pro Röhrchen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 2 Stunden im Dampfstrom sterilisieren. Die Lösung ist wasserklar, farblos.

Martinbouillon:

Zu 1 Liter aqua destillata, auf 50° C erwärmt, fügt man 10,0 reine Salzsäure und 200—300 g frische, zerkleinerte Schweinemägen, 24 Stunden Brutschrankaufenthalt bei 50° C, P_H = 7,0. Die Bouillon hat eine sattgelbe Eigenfarbe.

Brühe nach Hottinger (1913):

1 kg klein geschnittenes Fleisch in 1,5 Liter siedendem Wasser aufkochen lassen, danach Fleisch herausnehmen und durchdrehen. Nach Abkühlung der Brühe auf Handwärme 1 Messerspitze Natriumkarbonat, 3,0 Pancreatinum siccum und 20 ccm Chloroform hinzufügen; jetzt das durchgedrehte Fleisch wieder zusetzen und das ganze 2 Tage bei 37° C im Brutschrank halten; dann verdünnen mit 5 Teilen Wasser; P_H = 7,6. Die Brühe ist von hellgelber Eigenfarbe.

Peptonbouillon:

500 g Fleisch in 1 Liter Wasser 2 Stunden kochen lassen, die Brühe abgießen; zur Brühe 10,0 Pepton (Witte oder Reil) und 5,0 Kochsalz. P_H = 7,6. Die Witte-Peptonbouillon besitzt hellgelbe, die mit Reil-Pepton hergestellte eine blaß hellgelbe Eigenfarbe.

Zu den aus Fleisch bereiteten Brühen ist Pferdefleisch verwandt worden.

Sämtliche Nährmedien prüfte ich vor der Verwendung durch Einstellen der Röhrchen in den Brutschrank auf Sterilität.

Die Reagensröhrchen wurden mit je 10 ccm jeder Kulturflüssigkeit gefüllt und mit bekannten indolpositiven Stämmen (10 Stämme des Bacterium coli und 8 Stämme des Bacterium avisepticum) beimpft. Als Kontrolle wurde jede Nährlösung mit 10 indolnegativen Stämmen des Bacterium gallinarum (pullorum) beschickt. Nach 24stündigem Brutschrankaufenthalt bei 37° C fand die Indolprüfung statt. Für den Indolnachweis sind auf Grund des Ergebnisses des Vorversuches 2 (S. 17) die Modifikation des Ehrlich-Böhmeschen Reagens

nach Tobey-Crossonini und die des Aldehyds in amylalkoholischer (Kovács) und butylalkoholischer Lösung herangezogen worden. Zur Kontrolle der Indifferenz der Nährmedien diesen Reagentien gegenüber sind letztere über die unbeimpften Nährsubstrate geschichtet worden, ohne jedoch irgendwelche Farbänderung hervorzurufen oder selbst verändert zu werden.

Die Bakterien zeigen in den verschiedenen Nährmedien ein gutes Wachstum mit Ausnahme der Stämme des Bacterium avisepticum in der Zipfelschen Nährlösung, die kein sichtbares Wachstum erkennen ließen. In der Original-Hottingerbrühe blieb trotz guten Wachstums bei sämtlichen geprüften indolpositiven Stämmen mit Ausnahme eines Colistammes Indolbildung aus.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, besitzen die Friebersche Trypsinbouillon, die Nährlösung nach Zipfel, die Martinbouillon, die Witte-Pepton- und Reil-Peptonbouillon ein sehr gutes bis genügendes Indolbildungsvermögen bei Beimpfung mit Colibakterien und Anwendung amyl- und butylalkoholischer Aldehydlösung. Nach der Methode von Tobey-Crossonini geben nur das Friebersche und Zipfelsche Nährmedium ein zuverlässiges Ergebnis.

Bei der Beimpfung mit Geflügelcholerabakterien gibt die Friebersche Trypsinbouillon mit sämtlichen Reagentien sichere, gute Reaktionen, die Martinbouillon die gleichen Ergebnisse zum Teil in etwas geringerem Grade, aber nur bei Anwendung der amyl- und butylalkoholischen Aldehydlösung. In Witte-Peptonbouillon läßt sich bei Anwendung dieser Lösungen nicht mit voller Regelmäßigkeit deutlich Indol nachweisen; die Reil-Peptonbouillon liefert hin und wieder negative Ergebnisse. Die Methode nach Tobey-Crossonini versagt in den drei letzten Nährsubstraten mehr oder weniger.

Die zur Kontrolle geprüften Kükenruhrstämme bilden kein Indol.

Um festzustellen, welches Nährmedium in kürzester Zeit Indolbildung anzeigt, sind Friebers Trypsinbouillon, Martinbouillon und gewöhnliche Bouillon (1 % Witte Pepton) mit

denselben Coli- und Geflügelcholerastämmen beimpft und stundenweise bebrütet worden. In Trypsinbouillon ist Indolbildung bei Beimpfung mit Colibakterien nach 2stündiger Bebrütung, in Martin- und gewöhnlicher Bouillon nach 4 Stunden nachweisbar. In den entsprechenden Kulturen des Bacterium avisepticum hat die Indolbildung in der Trypsinbouillon frühestens nach 4 Stunden, in der Martin- und gewöhnlichen Bouillon nach 8 Stunden nachgewiesen werden können. Als Reagens wurde die butylalkoholische Aldehydlösung angewandt. Auffallend war bei diesem Versuch die in den Geflügelcholerakulturen in der gewöhnlichen Bouillon auftretende starke Rotfärbung des Reagens nach 10—12 Stunden langer Bebrütung, nach 24 Stunden langer Bebrütung ist diese Reaktion bedeutend schwächer und liefert sogar zweifelhafte Ergebnisse, ein Beweis dafür, daß das Auftreten der Indolbildung zeitweise begrenzt ist (Neisser 1921).

Diese Versuche zeigen, daß die Trypsinbouillon und die Martinbouillon auch bei schwächeren Indolbildnern und anspruchsvolleren Bakterien (Geflügelcholerabakterien) zum Indolnachweis geeignet sind. Zipfels Nährlösung ist beschränkt brauchbar für Bakterien, denen dieses Substrat für das Wachstum genügt. Die 1%ige Peptonbouillon (mit Witte- und Reil-Pepton) ist zum Indolnachweis nur für stärkere Indolbildner anwendbar (Colibakterien). In Trypsinbouillon wird in kürzerer Zeit Indol gebildet als in Martinbouillon (2 — bezw. 4 Stunden). Die Original-Hottingerbrühe ist für den Indolnachweis nicht geeignet.

4. Prüfung der Beeinflußung der Indolreaktion durch Zucker (Traubenzucker und Milchzucker).

Die Berichte in der Literatur über teilweise oder vollständige Hemmung der Indolbildung bei Gegenwart solcher Zuckerarten, die von den Bakterien angegriffen werden, haben dazu Veranlassung gegeben, die Indolbildung einiger Stämme in zuckerhaltigen Kulturflüssigkeiten nachzuprüfen.

Zwei Coli- und sechs „Intermedius"stämme „Standfuß" reagieren nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C in

Tabelle 2.

Nährmedium 24 Stunden bebrütet	10 Stämme: Bact. coli		8 Stämme: Bact. avisepticum		10 Stämme: Bact. pullorum	
	Ringmethode Tobey-Crossonini	Ehrlichs Aldehydlösung in Amyl- und Butylalkohol	Ringmethode Tobey-Crossonini	Ehrlichs Aldehydlösung in Amyl- und Butylalkohol	Ringmethode Tobey-Crossonini	Ehrlichs Aldehydlösung in Amyl- und Butylalkohol
Trypsinbouillon nach Frieber	2 Stämme +++ 6 Stämme ++ 2 Stämme +	10 Stämme++++	8 Stämme +	1 Stamm ++++ 3 Stämme +++ 4 Stämme ++	10 Stämme —	10 Stämme —
Nährlösung nach Zipfel	1 Stamm ++++ 5 Stämme +++ 3 Stämme ++ 1 Stamm +	8 Stämme ++++ 2 Stämme +++	8 Stämme —	8 Stämme — (ungenügendes Wachstum)	10 Stämme —	10 Stämme —
Martinbouillon	10 Stämme ±	9 Stämme ++++ 1 Stamm +++	1 Stamm + 7 Stämme ±	4 Stämme +++ 4 Stämme ++	10 Stämme —	10 Stämme —
1% Witte-Peptonbouillon	1 Stamm + 6 Stämme ± 3 Stämme —	7 Stämme ++ 3 Stämme +	4 Stämme ± 4 Stämme —	6 Stämme ++ 2 Stämme +	10 Stämme —	10 Stämme —
1% Reil-Peptonbouillon	4 Stämme + 6 Stämme ±	3 Stämme +++ 6 Stämme ++ 1 Stamm +	1 Stamm ± 7 Stämme —	1 Stamm + 7 Stämme ±	10 Stämme —	10 Stämme —
Original-Hottingerbrühe (mit Pancreatin)	2 Stämme ± 8 Stämme —	1 Stamm ++ 1 Stamm ± 8 Stämme —	8 Stämme —	8 Stämme —	10 Stämme —	10 Stämme —

Vorversuch 3: Prüfung verschiedener Nährmedien auf ihre Eignung für die Anstellung des Indolnachweises (Seite 20) mit 3 Modifikationen des Ehrlichschen Reagens. — Erklärung der Zeichen: Seite 14.

Peptonwasser mit 2 % Milchzuckergehalt indolpositiv, mit 2 % Traubenzuckergehalt indolnegativ. Außerdem sind 4 Coli- und 4 Geflügelcholerastämme in Peptonwasser mit steigendem Traubenzuckergehalt und mit 2 % Milchzuckergehalt nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt auf Indol geprüft worden. Lösungen mit folgendem Traubenzuckergehalt sind beimpft worden: 0,01 %, 0,025 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,2 % 0,5 %, 1 %, 2 %. Die 4 Colistämme bilden bei 2 % Milchzuckergehalt Indol. Bei 0,01 % Traubenzuckergehalt sind diese Stämme stark indolpositiv, bei 0,025 % und höheren Konzentrationen negativ.

Die 4 Geflügelcholerastämme bilden sämtlich bei 2 % Milchzuckergehalt Indol. In den verschiedenen Konzentrationen des Traubenzuckerpeptonwassers verhalten sich die Stämme im Gegensatz zu den Colistämmen nicht gleich; bei 0,01 % Traubenzuckergehalt sind sie sämtlich positiv.

Zwei Stämme bilden in den höheren Konzentrationen kein Indol, während die anderen in der Indolbildung nicht gehemmt sind, der eine Stamm bei 1 % Traubenzuckergehalt, der andere noch bei 2 % positive Indolreaktion gibt. Daß Traubenzuckerzusatz auf die Geflügelcholerabakterien einen geringeren Einfluß in bezug auf die Indolbildung ausübt als auf Colibakterien, zeigt auch folgender Versuch: 39 Geflügelcholerastämme wurden in 1 %iges Peptonwasser mit je 1 % Traubenzucker-, 1 % Rohrzucker- und 1 % Mannitzusatz übergeimpft und 3 Tage lang bebrütet; in den 3 verschiedenen Nährmedien wurde Säure ohne Gas gebildet. In Mannitpeptonwasser, in dem bei 3 Stämmen die P_H-Zahl über 7,0 lag, wurde in jedem Falle Indol nachgewiesen. Im 1 %igen Rohrzucker-Peptonwasser reagierten 2 Stämme indolnegativ und im 1 %igen Traubenzucker-Peptonwasser zeigten 31 Stämme ein negatives und 8 Stämme ein positives Ergebnis. Entgegen der Mitteilung von Rolle (1928), daß das Bacterium bipolare in zuckerhaltigen Medien keine Säure bildet, bestätigt dieser Versuch außerdem die einschlägigen Angaben in der Literatur (Magnusson 1913, Frohböse 1926, Takats 1928, van Heelsbergen 1929, von Hutyra 1929, Manninger 1929), wonach Säurebildung stattfindet.

Die Beobachtung, daß in einer mit Trypsinbouillon versetzten Leberbouillon durch Beimpfung mit Colikulturen nach 24 stündiger Bebrütung nur sehr wenig Indol gebildet wird, ließ es angezeigt erscheinen, auch das Indolbildungsvermögen einer mit Glykogen in steigenden Mengen von 0,1%, 0,2%, 0,5% und 1% versetzten Trypsinbouillon nach Frieber zu prüfen. Je ein zur Beimpfung herangezogener starker und schwacher Indolbildner der Coligruppe, ebenso die beimpften Kontrollen ohne Glykogenzusatz, reagierten stark positiv. Die unbeimpften Kontrollen dieser Glykogenbouillon blieben negativ.

Aus diesen Versuchen läßt sich folgern, daß ein Gehalt von 2% Milchzucker die Indolbildung bei Bakterien der Coligruppe nicht zu unterbinden vermag, daß aber ein geringer Traubenzuckergehalt (0,025%) die Indolbildung nach 24 stündiger Bebrütung gänzlich aufhebt. Da Milchzucker von den Geflügelcholerabakterien nicht angegriffen wird, war Indolbildung zu erwarten. Gegen Anwesenheit von Traubenzucker sind die einzelnen Geflügelcholera-Stämme ganz verschieden empfindlich; 1 und sogar 2% dieses Zuckers sind bei einzelnen Stämmen nicht imstande, die Indolbildung zu hemmen. Glykogen scheint auf die Indolbildung keinen Einfluß zu haben.

II. Hauptversuche.

Die Ergebnisse der Vorversuche sind in den folgenden Hauptversuchen weiter vertieft worden in dem Sinne, daß eine große Reihe von Bakterienstämmen in den als geeignet befundenen Nährmedien und mit den empfindlichsten Modifikationen der allein praktisch in Frage kommenden Ehrlich-Böhmeschen Indolreaktion vergleichend geprüft wurden. Hierzu sind Stämme der Institutssammlung benutzt worden. Außerdem haben folgende Institute in dankenswerter Weise Geflügelcholera- und Kükenruhrstämme freundlichst zur Verfügung gestellt:

Das Institut für Tierseuchentherapie der Tierärztlichen Hochschule in Berlin: Professor Dr. Bierbaum.

Das Tierseuchen-Institut der Universität Leipzig: Professor Dr. Eber.

Das Bakteriologische Institut der Landwirtschaftskammer in Bonn: Direktor Dr. Eickmann.

Das Hygienische Institut der Tierärztlichen Hochschule in Hannover: Professor Dr. Miessner.

Das Bakteriologische Institut der Landwirtschaftskammer in Halle: Direktor Dr. Rautmann.

Das Bakteriologische Institut der Landwirtschaftskammer in Breslau: Direktor Dr. Schumann.

Das staatliche Vererinär-Untersuchungs-Amt zu Potsdam: Veterinärrat Dr. Standfuß: Intermediusstämme.

Folgende Bakterienarten sind in den Versuchen geprüft worden:

Coligruppe:

35 Stämme des Bacterium coli comune,
7 Intermedius-Stämme (Standfuß).

Typhus-Paratyphusgruppe:

1 Stamm des Bacterium typhi (Eberth)
1 „ „ „ paratyphi A (Brion-Kayser)
6 Stämme „ „ paratyphi B (Schottmüller)
5 „ „ „ enteritidis (Gaertner)
6 „ „ „ enteritidis Breslau
2 „ „ „ suipestifer (Kunzendorf)
8 „ „ „ abortus ovis
2 „ „ „ abortus equi
50 „ „ „ gallinarium (pullorum)

Gruppe der hämorrhagischen Septikämie:

2 Stämme des Bacterium ovisepticum
1 Stamm „ „ cuniculisepticum
40 Stämme „ „ aviseptlcum.

Streptokken, Staphylokokken und pyogene Bakterien:

6 Stämme des Streptococcus agalactiae
3 „ „ „ equi
2 „ „ Staphylococcus aureus
1 Stamm „ „ pyogenes citreus
1 „ „ „ pyogenes flavus
1 „ „ Micrococcus tegragenus
4 Stämme „ Bacterium pyogenes
5 „ „ „ pyogenes equi
2 „ „ „ pyelonephritidis
4 „ „ „ pyocyaneum
1 Stamm „ „ pyosepticum viscosum

Sonstige Stämme:

10 Stämme des Bacterium abortus (Bang)
2 „ „ Proteus vulgaris
2 „ „ Spirillum parvum
1 Stamm „ Spirillum volutans
1 „ „ Bacterium prodigiosum

1 Stamm des Actinomyces chromogenes
1 „ „ Lungenseuchevirus
1 „ „ Bacillus larvae (White)

Anaerobe Bazillen:

Je 2 Stämme des Bacillus sarcophysematos
„ „ oedematis maligni (Koch)
„ Fränkelschen Gasbacillus (Bacillus Welchii)
„ Bacillus tetani

Im ganzen sind 223 Stämme der Prüfung auf Indol unterworfen worden.

Auf Grund des Ergebnisses des Vorversuches 3 (Seite 20) sind außer der Original Hottinger-Brühe die übrigen Nährmedien (Friebers Trypsinbouillon, Zipfels Nährlösung, Martinbouillon, Witte-Peptonbouillon, Reil-Peptonbouillon) zu den Hauptversuchen benutzt worden. Da Salus (1922) eine mit Trypsin statt Pancreatin hergestellte Hottinger-Brühe für den Indolnachweis geeignet fand, ist in die Hauptversuche an Stelle der für die Indolreaktion ungeeigneten Originalbrühe die modifizierte Brühe getreten (Herstellung wie die Originalbrühe, statt Pancreatin auf 100 g Fleisch 1 g Trypsin). Die Nährlösung nach Zipfel (1913) ist nur mit Vertretern der Coli-Paratyphusgruppe beimpft worden, die an Wachstum und Ernährungsbedingungen keine zu hohen Ansprüche stellen. Die Reagenzröhrchen wurden mit je 10 ccm Nährflüssigkeit gefüllt. Die angewandten Indolreagentien sind dieselben wie im Vorversuch 3: nämlich für sämtliche Nährmedien die amylalkoholische (Kovács) und butylalkoholische Lösung des Ehrlich-Böhmeschen Paradimethylamidobenzaldehyd, außerdem noch für Zipfels Nährlösung die Modifikation nach Tobey-Crossonini (Überschichten mit Böhmes Lösung 1) (siehe Tabelle 3). Die Reaktionen sind, wenn nichts anderes bemerkt ist, nach 24 stündigem Brutschrankaufenthalt bei 37° C vorgenommen worden.

Versuche mit Colibakterien.

Die Stämme sind in allen Medien gewachsen, am stärksten in der Martinbouillon und der gewöhnlichen Bouillon (mit Witte- und Reil-Pepton), etwas geringer in der Hottinger-

brühe und der Frieberschen Trypsinbouillon, Zipfels Nährlösung erscheint leicht diffus getrübt. In der Trypsinbouillon, Martinbouillon, Hottingerbrühe und Zipfelschen Nährlösung wird von sämtlichen Stämmen stark Indol gebildet; in letzterer tritt die Ringbildung der Methode nach Tobey-Crossonini an Schärfe hinter der Kovácsschen und butylalkoholischen Modifikation zurück. Die Indolbildung in der Witte- und Reil-Peptonbouillon ist im allgemeinen deutlich und gut positiv. Im Gegensatz zur Witte-Peptonbouillon, die immer positiv ausfällt, zeigt die Reil-Peptonbouillon, trotz guten Wachstums, zwei negative Ergebnisse unter 35 indolpositiven Stämmen.

Das Wachstum der „Intermedius"-Stämme „Standfuß" in den 6 Nährmedien entspricht dem der Colibakterien. In sämtlichen Substraten findet Indolbildung statt, die nach Zusatz des amylalkoholischen und butylalkoholischen Reagens sehr deutlich nachweisbar ist, ausgenommen in der Witte-Peptonbouillon, in welcher die Indolbildung etwas geringer ist. Die Überschichtungsprobe nach Tobey-Crossonini liefert in der Zipfelschen Nährlösung nicht die gleiche auffallende Reaktion wie die amyl- und butylalkoholischen Reagentien. Die bei Anwendung dieser Reagentien über der Nährlösung stehende und von dieser scharf abgesetzte durch gelöstes Rosindol rote Schicht ist prägnanter als der an der Grenze von Nährlösung und Reagens auftretende rotviolette Ring, der nach kurzer Zeit an Stärke verliert. Das Auftreten eines mahagonibraunen Ringes, wie ihn Standfuß und Lehr beschrieben, wurde nicht beobachtet. Das von Herrn Veterinärrat Dr. Standfuß in freundlicher Weise überlassene Originalreagens hat braungelbe Eigenfarbe und lieferte den beschriebenen mahagonifarbenen Ring. Das von mir verwandte Paradimethylamidobenzaldehyd von Merck hatte dagegen stets eine leicht grüngelbliche Eigenfarbe in sämtlichen angeführten Lösungen. Der Unterschied ist, wie von Herrn Veterinärrat Dr. Standfuß freundlicherweise mitgeteilt wurde, auf die verschiedene Bezugsquelle zurückzuführen.

Die 35 Stämme der Coligruppe bilden sämtlich Indol, wie übereinstimmend in der Literatur berichtet wird (Zinne

1894, Steensma 1906, de Graaf 1909, Burri und Andrejew 1910, Zipfel 1912, Norton und Sawayer 1921, Fröhner-Zwick 1925, Hutyra-Marek 1922, Neisser-Frieber 1923, Bongert 1927, Lehmann-Neumann 1927, Standfuß 1928, Baerthlein 1929, Nißle 1929, Wolters 1929). Wenn Konrich (1910 aus Faeces, Erde und Wasser gezüchtet) und Böhme (1906, Coli verschiedenster Herkunft) auch negative Ergebnisse erzielten, so stellen doch die neuesten Forschungen die Indolbildung als eines der „konstantesten Merkmale des typischen, milchzuckervergärenden, fäkalen Bacterium coli" (Nißle 1929) fest.

Versuche mit Bakterien der Typhus-Paratyphus-Gruppe.

Gute Wachstumsverhältnisse bieten diesen Bakterien die Martinbouillon, die Witte- und Reil-Peptonbouillon, die Hottingerbrühe und die Trypsinbouillon, wenn auch in letzterer der Grad der Trübung nicht so stark ausgeprägt ist, wie in den vorher erwähnten Nährmedien. In Zipfels Nährlösung zeigen die Mehrzahl der übergeimpften Stämme gutes Fortkommen durch leichte diffuse Trübung an; indessen wurde durch einige Stämme diese Nährlösung nach 24 stündiger Bebrütung nur sehr schwach, hauchartig, getrübt: [Bacterium abortus ovis, Bacterium typhi, Bacterium abortus equi, Bacterium gallinarum (pullorum)]. Sämtliche Stämme reagieren indolnegativ, wie auch allgemein in der Literatur über diese Gruppe berichtet wird. [Kitasato 1889, Zinno 1894, Lösener 1895, Selter 1909, Telle und Huber 1911, Zipfel 1912, Fröhner-Zwick 1925, Hutyra-Marek 1922, Heim 1922, Neisser-Frieber 1923, Bongert 1927, Lehmann-Neumann 1927, Baerthlein 1929, Gotschlich 1929, Wolters 1929, Manninger 1928, van Heelsbergen 1929, Mießner-Wetzel die vier letzten Autoren berichten besonders über das Bacterium gallinarum (pullorum)]. Die Angaben von Grabert (1904) und Poppe (1908/09) über schwach positive Indolreaktionen beim Bacterium suipestifer und Bacterium paratyphi B sind vorsichtig zu beurteilen, weil die hier angewandte Salkowski-Reaktion als nicht spezifisch für Indol (Frieber 1922) zu Irrtümern führen kann.

Versuche mit Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.

In den 5 beimpften Nährmedien zeigen die Bakterien gutes Wachstum. Martinbouillon, Witte- und Reil-Peptonbouillon sind gleichmäßig diffus mittelstark getrübt. Friebers Trypsinbouillon und die Hottingerbrühe erreichen nicht ganz diesen Trübungsgrad. Ein Stamm zeigte bei der Prüfung auf Reinheit nach nochmaligem Überimpfen in gewöhnlicher Witte-Peptonbouillon ein flockiges Wachstum. Regelmäßig indolpositive Ergebnisse sind in Friebers Trypsin- und in Martinbouillon nach 24 Stunden Brutdauer zu verzeichnen. Beide Nährmedien geben mit einigen Ausnahmen, die nur schwach positiv reagieren, gute und stark positive Indolreaktionen, welche die Trypsinbouillon nach Frieber etwas häufiger liefert als die Martinbouillon. Die Indolbildung in der Witte- und Reil-Peptonbouillon wie in der Hottingerbrühe läßt diese Nährmedien nach 24 Stunden Brutdauer für den Indolnachweis nicht geeignet erscheinen; denn die Witte-Peptonbouillon gibt ca. 25 % negative Resultate neben einigen guten und stark positiven Reaktionen: die Reil-Peptonbouillon reagiert in 55 % der Fälle negativ (24 von 43 Stämmen) und die Hottingerbrühe (Trypsinverdauung) liefert neben mehreren deutlich positiven und einigen negativen, schwach positive und zweifelhafte Reaktionen. Die 43 geprüften Stämme dieser Gruppe bilden in geeigneten Nährmedien sämtlich Indol, wie überhaupt die neueren Untersuchungen über die in diese Gruppe gehörigen Varianten positive Ergebnisse lieferten und viele Autoren die Indolbildung bei Bakterien der hämorrhagischen Septikämie als konstantes Artmerkmal ansehen (Kitasato 1889, Voges und Proskauer 1898, Böhme 1906, Steensma 1906, Schirop 1908, Porcher und Panisset 1909, Neisser 1921, Norton und Sawayer 1921, Neisser-Frieber 1923, Fröhner-Zwick 1925, Csontos 1926, Fazakas 1926, Frohböse 1926, Tanaka 1926, Rolle 1928, Takats 1928, Manninger 1928/29, Glässer 1929, van Heelsbergen 1929, von Hutyra 1929, Wolters 1929). Auch aus neuerer Zeit liegen einzelne Angaben vor über das Fehlen von

Indolbildung bei Bakterien dieser Gruppe (Magnusson 1913, Gotschlich 1929, Wolters 1929). Wenn in früherer Zeit oft regelmäßig negative Indolbefunde registriert wurden, so liegt die Ursache zum Teil darin, daß der Begriff des Bacterium plurisepticum zu weit gefaßt wurde (Hueppe 1886, Busson 1921, Pribram und Plasay 1922) oder Versuchsanordnung, Auswahl der Nährmedien sowie die Wahl des Reagens zu Irrtümern Veranlassung gaben (Karlinski 1898, Ligniéres 1900, zit. nach Busson, Nocard und Leclainche 1903).

Versuche mit Streptokokken, Staphylokokken und pyogenen Bakterien.

Ein sehr gutes Wachstum wurde in sämtlichen Nährmedien bei den Stämmen des Bacterium pyocyaneum, des Bacterium pyosepticum viscosum und der Staphylokokken beobachtet. Das Bacterium pyogenes und Bacterium pyogenes equi gedieh am besten in der Martinbouillon, der Witte- und Reil-Peptonbouillon; in Trypsinbouillon und Hottingerbrühe zeigt sich etwas geringeres Wachstum. Die geprüften Streptokokken bildeten in den Nährmedien einen flockigen Bodensatz, der bei den Mastitisstreptokokken stärker war, als bei den Stämmen des Streptococcus equi. Die 30 geprüften Stämme dieser Gruppe sind sämtlich indolnegativ übereinstimmend mit den Angaben von Kitasato 1889, (Staphylokokken, Micrococcus tetragenus) Petri 1890 (Staphylokokken, Streptokokken, Micrococcus tetragenus, Bacterium prodigiosum), Heim 1922 (Staphylokokken, Streptokokken, Bacterium prodigiosum), Neisser-Frieber 1923 (Bacterium pyocyaneum), Lehmann-Neumann 1927 (Bacterium pyocyaneum), Neisser 1928 (Staphylokokken). Nach Bongert 1927 und Metschnikoff (zit. nach Neisser 1928) bilden die Staphylokokken Indol, was nach Neisser jedoch auf einen Irrtum beruht. Lode 1929 bemerkt, daß bei vereinzelten Stämmen des Bacterium pyocyaneum Indol sehr schwach nachweisbar ist. Während Norton und Sawayer 1921 in Kulturen des Bacterium pyocyaneum Indol wieder regelmäßig feststellen konnten.

Versuche mit sonstigen Bakterienstämmen.

Die 10 Stämme des Bacterium abortus (Bang) zeigten übereinstimmend nach 24 stündiger Bebrütung eine gleichmäßige leichte diffuse Trübung und geringen Bodensatz in Friebers Trypsinbouillon, in der Hottingerbrühe und Reil-Peptonbouillon, während in der Martinbouillon und gewöhnlichen Witte-Peptonbouillon schwächeres Wachstum beobachtet wurde, so daß anzunehmen ist, daß die Martinbouillon und Witte-Peptonbouillon diesem Bacterium geringere Wachstumsmöglichkeiten bieten, als die drei erstgenannten Nährmedien. Indol war in den Kulturen nicht nachzuweisen, übereinstimmend mit Zwick und Zeller (1913).

Die beiden Proteusstämme sind in allen Nährmedien sehr gut gewachsen. In der Trypsinbouillon, Martinbouillon und Hottingerbrühe war starke Indolbildung vorhanden, dagegen gab die Reil-Peptonbouillon ein schwach positives und positives, die Witte-Peptonbouillon ein positives und ein negatives Ergebnis. Die positive Indolreaktion dieser beiden Stämme deckt sich mit den Angaben von Steensma 1906, Norton und Sawayer 1921; Neisser-Frieber 1923 bezeichnen indessen das Bacterium proteus vulgare als indolnegativ, und auch Wolters 1929 hatte negative Ergebnisse, während nach Lehmann-Neumann 1927 und Gotschlich 1929 Indolbildung nicht immer anzutreffen ist.

Um den Abortus-Spirillen (Vibrio fetus) bessere Wachstumsbedingung zu bieten, wurde den Nährmedien defibriniertes Pferdeblut zugesetzt. Nach 3 tägiger Bebrütung zeigt sich das Wachstum der Spirillen als feiner fädig-schleimiger Bodensatz auf den sedimentierten Blutkörperchen mit Ausnahme der Trypsinbouillon, in der Wachstum nicht erkennbar war. Indol konnte nicht nachgewiesen werden. Ebenso fehlte die Indolbildung bei dem Actinomycesstamm und dem Lungenseuchevirus, das in Martinbouillon mit Serumzusatz 8 Tage bebrütet war.

Versuche mit anaeroben Bazillen.

Die Anaerobier wurden von Hirnbreinährböden übergeimpft in ein Nährmedium, das sich zu 50% aus Leberbouillon und zu 50% aus Trysinbouillon nach Frieber zusammen-

setzte, letztere mit 5%igem Peptongehalt. Die Nährlösung enthielt am Boden Leberstückchen. Als Kontrolle dienten einige unbeimpfte und einige mit Colibakterien beimpfte Röhrchen. Der Indolnachweis wurde täglich während der 4 tägigen Versuchsdauer geführt. Wachstum war durch Trübung und Schaumbildung festzustellen. Die Colibakterien zeigten nach 24 Stunden sehr geringe, nach dem 2., 3. und 4. Tage indessen starke Indolbildung. Die beiden Tetanusstämme bildeten Indol, bei den übrigen Versuchsstämmen fehlte Indolbildung. Der eine Tetanusstamm zeigte nach 2 Tagen gute, deutliche Indolbildung, die nach dem 3. und 4. Tage in demselben Grade nachzuweisen war; der zweite Tetanusstamm reagierte nach dem 3. Tage schwach indolpositiv.

Bei einem zweiten Versuch wurde Frieber sche Trypsinbouillon mit 5% Peptongehalt und einigen Fleischstückchen anstelle der Leberstücke im Reagenzröhrchen verwandt. Dieses Nährmedium ist mit denselben Coli- und Anaerobenstämmen wie vorher beimpft und in verschiedenen Röhrchen je 2, 3, 5, 7 und 9 Tage bebrütet worden. Der sich bei dem vorigen Versuch bereits als starker Indolbildner erwiesene Tetanusstamm bildete hier nach 3 Tagen deutlich Indol, der andere Tetanusstamm zeigt nach 5 Tagen sehr schwache positive Indolreaktion, die übrigen blieben indolnegativ. Auch nach Kitasato (1889: stark Indol), Norton und Sawayer (1921: regelmäßig Indol) und Eisler (1928: sehr wenig Indol) bildet sich in Tetanuskulturen Indol. Nach Lehmann-Neumann (1927) ist Indol bei anaeroben Bazillen mit Ausnahme des Fränkelschen Gasbazillus als eines der Endprodukte des Eiweißumsatzes anzutreffen. Desgleichen berichtet Kitasato (1889) über positive Indolreaktionen bei Rauschbrand- und malignen Oedembazillen, während nach Neisser-Frieber (1923) das Indolbildungsvermögen den Anaerobiern wahrscheinlich fehlt. Die Angabe von Kitasato ist nicht stichhaltig, da es fraglich ist, ob mit Reinkulturen gearbeitet wurde. Die wenigen eigenen Versuche sind naturgemäß nicht geeignet, die bestehenden Unstimmigkeiten zu klären.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

Für den Indolnachweis kommt in der bakteriologischen Technik allein das Ehrlichsche Paradimethylamidobenzaldehyd in seinen Modifikationen in Betracht, das an Schärfe und Empfindlichkeit dem Salkowski-Nitritreagens überlegen ist und außerdem spezifisch auf Indol reagiert, während die Salkowski-Reaktion nach Friebers Untersuchungen (1922) gleichzeitig eine Indolessigsäurereaktion darstellt, also unspezifisch ist. Die Modifikation der Ehrlich-Böhmeschen Reaktion nach Kovács (Lösung des Reagens in konzentrierter Salzsäure und Amylalkohol) und die eigene Modifikation (Ersatz des Amylalkohols durch Butanol) haben sich den Modifikationen nach Tobey (1908), Crossonini (1910), Zipfel (1912) und Frieber (1922) gegenüber als überlegen erwiesen. Die Überlegenheit der Kovácsschen Modifikation besteht darin, daß

1. das Verfahren außerordentlich einfach ist, da nur ein einziges, lange haltbares Reagens einzeitig angewandt wird und die Reaktion schnell eintritt,

2. die Reaktion sehr viel deutlicher, schärfer und regelmäßiger als bei den Misch- und Überschichtungsproben abzulesen ist und auch bei längerer Beobachtung die Reaktion spezifisch bleibt,

3. die Reaktion durchaus zuverlässig ist. Bei den typischen Indolbildnern läßt sich stets sofort oder ganz ausnahmsweise nach wenigen Minuten Indol nachweisen, während die Vertreter indolnegativer Bakterien stets einwandfrei und ohne jeden Zweifel negativ reagierten. Selbst nach stundenlangem Stehen trat ebenso wie bei unbeimpften Nährbodenkontrollen nicht die geringste Farbänderung auf,

4. die Ablesung der Reaktion durch Eigenfarbe der Nährmedien durchaus nicht gestört wird, im Gegensatz zu den übrigen Modifikationen des Ehrlich-Böhmeschen Verfahrens. Hierin liegt der wesentliche Vorteil, jederzeit optimale Nährmedien mit hohem Peptongehalt oder Spezialnährböden mit Eigenfarbe anwenden zu können (z. B. Martinbouillon), eine Notwendigkeit, die sich ergibt, wenn man

Tabelle 3.
Übersicht über die Hauptversuche.

Bezeichnung der Stämme	Friebers Trypsinbouillon	Martinbouillon	Witte-Peptonbouillon	Reil-Peptonbouillon	Hottingerbrühe (trypsinverdaut)	Nährlösung nach Zipfel (beimpft nur mit Bakterien der Coli-Paratyphusgruppe)	Überschichtet mit Ehrlich-Böhmes Reagens: Lsg. 1
	Ehrlichs Aldehyd, gelöst in Amylalkohol (Kovács) und Butylalkohol (Butanol)						
Bact. coli commune und intermedium („Standfuß") 42 Stämme	28 Stämme ++++ 14 „ +++	21 Stämme ++++ 20 „ +++ 1 Stamm ++	2 Stämme +++ 20 „ ++ 19 „ + 1 Stamm ±	10 Stämme +++ 13 „ ++ 16 „ + 1 Stamm ± 2 Stämme —	5 Stämme ++++ 23 „ +++ 4 „ ++ 32 „ geprüft	29 Stämme ++++ 13 „ +++	5 Stämme ++++ 21 „ +++ 10 „ ++ 6 „ +
Bakterien der hämorrhagischen Septikämie: Bact. avisept. . . . 40 Stämme „ ovisept. . . . 2 Stämme „ cunicul. . . . 1 Stamm Sa.: 43 Stämme	2 Stämme ++++ 31 „ +++ 7 „ ++ 3 „ +	1 Stamm ++++ 25 Stämme +++ 15 „ ++ 2 „ +	1 Stamm +++ 13 Stämme ++ 9 „ + 8 „ ± 12 „ —	5 Stämme + 14 „ ± 24 „ —	5 Stämme +++ 5 „ ++ 3 „ + 6 „ ± 3 „ −		
Typhus-Paratyphus-Gruppe:							
Bact. typhi	1 Stamm —	—	—	—	—	—	—
„ paratyphi A	1 „ —	—	—	—	—	—	—
„ paratyphi B	6 Stämme —	—	—	—	—	—	—
„ enterit. Gärtner	5 „ —	—	—	—	—	—	—
„ enterit. Breslau	6 „ —	—	—	—	—	—	—
„ suipestifer	2 „ —	—	—	—	—	—	—
„ abortus ovis	8 „ —	—	—	—	—	—	—
„ abortus equi	2 „ —	—	—	—	—	—	—
„ gallinarum (pullorum)	50 „ —	—	—	—	—	—	—
Kokken und pyogene Bakterien:							
Streptococcus agalactiae	6 Stämme —	—	—	—	—		
„ equi	3 „ —	—	—	—	—		
Staphylococcus aureus	2 „ —	—	—	—	—		
„ pyog. citreus	1 Stamm —	—	—	—	—		
„ „ flavus	1 „ —	—	—	—	—		
Micrococcus tetragenus	1 „ —	—	—	—	—		
Bact. pyogenes	4 Stämme —	—	—	—	—		
„ „ equi	5 „ —	—	—	—	—		
„ pyelonephritidis	2 „ —	—	—	—	—		
„ pyocyaneum	4 „ —	—	—	—	—		
„ pyosept. viscosum	1 „ —	—	—	—	—		
Sonstige Stämme:							
Bact. abortus (Bang)	10 Stämme —	—	—	—	—		
Bact. proteus vulgare 2 Stämme	1 Stamm ++++ 1 „ +++	2 Stämme ++++	1 Stamm + 1 „ —	1 Stamm — 1 „ ±	1 Stamm +++ 1 „ ++		
Spirillum parvum	2 Stämme —	—	—	—	—		
„ volutans	1 Stamm —	—	—	—	—		
Bact. prodigiosum	1 „ —	—	—	—	—		
Actinomyces chromogenes	1 „ —	—					
Lungenseuchevirus	1 „	—					
Bacillus larvae	1 „ —		—	—	—		
Anaerobe Bazillen:	Frieber's Trypsinbouillon						
	mit 5% Pepton	mit 5% Pepton plus Leberbouillon					
Bac. sarcophysematos 2 Stämme	2 Stämme —	2 Stämme −					
Bac. oedematis maligni (Koch) 2 Stämme	2 „ —	2 „ −					
Bac. Welchii 2 Stämme	2 „ —	2 „ −					
Bac. tetani 2 Stämme	1 Stamm ++ 1 „ ±	1 Stamm +++ 1 „ ±					

Stämme prüft, die an die Nährlösungen hohe Anforderungen stellen.

Der butylalkoholischen Aldehydlösung kann wegen der technischen Sicherheit bei ihrer Anwendung der Vorzug gegeben werden, weil die Gefahr des Auftretens unspezifischer Reaktionen wie beim Amylalkohol nicht besteht, das Arbeiten infolge Fehlens des dem Amylalkohol begleitenden fuseligen Geruches ein angenehmeres ist, eine Trübung des Reagens nach dem Überschichten schwerer eintritt und der Preis sich um ein Vielfaches niedriger stellt als der des Amylalkohols.

Als geeignete Nährmedien für den Indolnachweis ist an erster Stelle die Friebersche Trypsinbouillon und danach die Martinbouillon zu nennen, die auch bei Beimpfung mit anspruchsvollen Bakterien und schwächeren Indolbildnern (Geflügelcholera) unter Benutzung der amyl- und butylalkoholischen Modifikation immer einwandfreies Wachstum auch anspruchsvoller Keime und sichere Ergebnisse in bezug auf Indolbildung geliefert haben. Die besondere Eignung wird dadurch gekennzeichnet, daß Indolbildung in Friebers Bouillon nach Beimpfung mit Bacterium coli nach 2 Stunden, in Martinbouillon nach 4 Stunden nachweisbar ist (nach 4 Stunden war in Witte-Peptonbouillon erst wesentlich schwächere Indolbildung nachweisbar). Auch Fazakas (1926) hält die Martinbouillon für brauchbar zum Nachweis von Indol bei Geflügelcholerabakterien. Mit beiden Nährlösungen waren die geprüften Bakterienstämme der hämorrhagischen Septikämie sämtlich indolpositiv.

Zipfels eiweißfreie Nährlösung ist nur geeignet für Bakterien, die an die Wachstumsbedingungen nicht zu hohe Ansprüche stellen (Neisser-Frieber 1923, Wolters 1929), wie die Vertreter der Coli- und ein großer Teil der Typhus - Paratyphus - Gruppe; dagegen zeigten sämtliche Stämme des Bacterium abortus ovis und eine größere Anzahl Kükenruhrstämme (15 von 50 Stämmen = 30 %) in dieser Lösung nach 24stündiger Bebrütung nur sehr geringes Wachstum. Die mit Trypsin verdaute Hottingerbrühe, die Witte-Pepton- und Reil-Peptonbouillon, sind nur für stärkere

Indolbildner (Colibakterien) als zuverlässiges Nährmedium verwendbar; die geprüften 35 Coli- und die „Intermedius"stämme, welch letztere nach Lehr (1928) schwache Indolbildner sind, reagierten sämtlich positiv, mit Ausnahme zweier Colistämme in Reil-Peptonbouillon. Das Reil-Pepton ist demnach dem Witte-Pepton in bezug auf die Eignung für den Indolnachweis bei Colibakterien unterlegen, da die Colibakterien sämtlich Indol in Witte-Pepton bildeten. Die Original-Hottingerbrühe (mit Pancreatin verdaut) läßt nur ganz ausnahmsweise bei starken Indolbildnern Indolbildung erkennen und ist daher als Nährmedium für den Indolnachweis ungeeignet. Die Trypsin- und die Pepsinverdauung schafften bessere Vorbedingungen für die Indolbildung durch Bakterien als die Pancreatinverdauung. Hiermit erklärt sich die Angabe von Lignières (zit. nach von Hutyra 1929), sowie von Nocard und Leclainche (1903), daß Bakterien der hämorrhagischen Septikämie Indol nicht bilden, da die Autoren mit „bouillon pancrèatique" arbeiteten.

Geringer Traubenzuckergehalt im Nährmedium hemmt die Indolbildung sowohl bei Bacterium coli als auch bei Geflügelcholerabakterien; jedoch kommen bei letzteren Stämme vor, die noch bei 2% Traubenzuckergehalt Indol zu bilden vermögen (1 Stamm von 4 insgesamt auf diese Eigenschaft geprüften). Es handelte sich auch nach dem typischen Wachstum auf der Blutagarplatte (Rolle 1926) (s. Abb.) um einwandfreie Geflügelcholerabakterien. (Gramnegativ, mäusepathogen, indolnegativ, Säurebildung ohne Gas aus Trauben-, Rohrzucker und Mannit).

Das Indolbildungsvermögen des Bacterium avisepticum ist differentialdiagnostisch gut verwertbar gegenüber dem indolnegativen Bacterium gallinarum (pullorum) (Manninger 1928, van Heelsbergen 1929), zumal wenn Zweifel bei der Bestimmung einen sichereren Schluss auf die Zugehörigkeit zu einer dieser beiden Gruppen nicht zulassen sollten (Beller 1926/27, van Heelsbergen 1929).

Die Tetanusbazillen bilden Indol in wechselnder Menge. Über das Indolbildungsvermögen des Bazillus sarcophysematos, des Bacillus oedematis maligni (Koch und des Fränkel-

schen Gasbazillus läßt sich auf Grund der negativen Ergebnisse der in die Versuche genommenen zwei Vertreter jeder Art ein abschließendes Urteil nicht fällen. Wahrscheinlich sind sie indolnegativ, da bei der verschieden langen Bebrütung in optimalen Nährmedien (1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 Tage) Indolbildung nicht nachweisbar war, während die zur Kontrolle beimpften Röhrchen mit Bacterium coli und Bacillus tetani positive Indolreaktionen gaben.

Schlußsätze.

1. *Die Indolbildung in Bakterienkulturen ist im Sinne Neissers ein sicheres, konstantes, leicht nachweisbares Merkmal von grosser differentialdiagnostischer Bedeutung. Bei 123 geprüften Vertretern der Coli-Typhus-Gruppe, sowie 43 Bakterienstämmen der hämorrhagischen Septikämie wurde ein abweichendes Verhalten nicht gefunden. Auch die übrigen zur Kontrolle geprüften Stämme verschiedener Mikroorganismen zeigten das nach der Literatur charakteristische Verhalten in Bezug auf Indolbildung.*

2. *Sehr gut geeignet für den Indolnachweis in der bakteriologischen Technik ist die Modifikation des Ehrlich-Böhmeschen Aldehydreagens nach Kovács, die darin besteht, daß der Aethylalkohol der Originalvorschrift durch Amylalkohol ersetzt ist. Hierdurch wird erreicht, daß der sich mit der Nährflüssigkeit nicht mischende Amylalkohol gleichzeitig eine Extraktion und Anreicherung des Indolfarbstoffes bewirkt.*

3. *Die Eigenfarbe eines Nährmediums setzt die Schärfe und Empfindlichkeit dieser Modifikation nicht herab; der Peptongehalt des Mediums kann daher für bestimmte schlecht wachsende Keime gesteigert werden; auch lassen sich Spezialnährmedien mit Eigenfarbe für die Reaktion verwenden.*

4. *Der Amylalkohol kann durch primären Butylalkohol (Butanol der I.G.-Farbenindustrie, A.-G.) ersetzt werden. Der billige Butylalkohol hat den Vorteil, daß er im Gegensatz zum Amylalkohol stets rein zur Verfügung steht, und aus diesem Grunde unspezifische Fehlreaktionen nicht eintreten. Weiterhin ist die Extraktionswirkung besser*

und die Lösung des Indolfarbstoffes klarer als beim Amylalkohol.

5. *Die geeignetste Nährflüssigkeit für den Indolnachweis in Bakterienkulturen ist die Trypsinbouillon nach Frieber, fast ebenso gut eignet sich die Martinbouillon. Mit Sicherheit kann der Indolnachweis in beiden Nährmedien nach 24 stündiger Bebrütung geführt werden.*

6. *Die eiweißfreie tryptophanhaltige Nährlösung nach Zipfel eignet sich nur für den Indolnachweis bei weniger anspruchsvollen Keimen, während zahlreiche schlechter wachsende Bakterien in dieser Nährlösung nach 24 stündiger Bebrütung nicht oder nicht hinreichend gedeihen, die Reaktion infolgedessen nicht in der für die Beurteilung notwendigen Stärke hervortritt.*

7. *Die mit Trypsin verdaute Hottingerbrühe, die Witte-Peptonbouillon und die Reil-Peptonbouillon sind nur für stärkere Indolbildner als Nährmedien nach 24 stündiger Bebrütung geeignet.*

8. *Die mit Pancreatin verdaute Original-Hottingerbrühe ist für den Indolnachweis nicht brauchbar.*

9. *Sämtliche Geflügelcholerabakterien bilden Indol im Gegensatz zu den negativen Ergebnissen mit den Vertretern der Typhus-Paratyphusgruppe. Der Indolnachweis in geeigneten Nährlösungen mit optimalen Reagentien ist ein sicheres Unterscheidungsmerkmal gegenüber dem Bacterium gallinarum (pullorum). Sämtliche geprüften Geflügelcholerastämme bilden in Mannit, Saccharose-, Glukose-Peptonlösung Säure ohne Gas. Bei 3 Stämmen war die Säurung in Mannit gering.*

10. *Die von Rolle beschriebene Wallbildung der Kolonien der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie wurde auf der Traubenzuckerblutagarplatte ebenfalls beobachtet. Auf der einfachen Blutagarplatte, die wesentlich üppigeres Wachstum erkennen läßt (übereinstimmend mit Manninger 1929), zeigte sich Wallbildung der Geflügelcholerabakterien nur ausnahmsweise.*

Literaturverzeichnis.

1. Antonoff, N. **1907**: Über kreatininbildende Bakterien. — Zbl f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 43, S. 209—212.
2. Arnold, K. **1923**: Repetitorium der Chemie, Leipzig 16. Aufl.
3. Baerthlein, K. **1929**: Abdominaltyphus, — In: Kolle, Kraus, Uhlenmuth Handbuch der path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. III, S. 1175—1278.
4. Beller, K. **1926**: Bakterielle Kükenruhr (sog. weiße Ruhr) und ihre Beziehung zum Hühnertyphus. — Arb. Reichs Ges. A. Bd. 57, S. 462.
5. Beller, K. **1927**: Zur Aetiologie des Kükensterbens. D. tierärztl. W. Bd. 35, Nr. 51. S. 827—830.
6. Bleisch, M. **1893**: Über einige Fehlerquellen bei Anstellung der Cholerarotreaktion und ihre Vermeidung. — Zschr. f. Hyg. Bd. 14, S. 102—115.
7. Böhme, A. **1906**: Anwendung der Ehrlichschen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 40, S. 129—133.
8. Bongert, J. **1927**: Bakteriologische Diagnostik. — Berlin, 7. Aufl.
9. Bujwid, O. **1887**: Eine chemische Reaktion für die Cholerabakterien. — Zschr. f. Hyg. Bd. 2. S. 52—53.
10. Burri, R. und Andrejew, P. **1910**: Vergleichende Untersuchungen einiger Coli- und Paratyphusstämme. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 56, S. 217—233.
11. Busson, B. **1921**: Die Erreger der hämorrhagischen Septikämie. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 86, S. 101—118.
12. Crossonini, E. **1910**: Über den Nachweis von Indol in den bakterischen Kulturen mit der Ehrlichschen Methode. — Arch. f. Hyg. Bd. 72, S. 161—174.
13. Csontos, J. **1926**: Die Indolbildung des Bacillus bipolaris aviseptieus. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 97, S. 171—181.
14. Dunham, E. K. **1887**: Zur chemischen Reaktion der Cholerabakterien. — Zschr. f. Hyg. Bd. 2, S. 337—341.
15. Eisler, M. **1928**: Tetanus. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 4, S. 1027—1096.
16. Ellenberger-Scheunert **1925**: Lehrbuch der vergleichenden Physiologie der Haussäugetiere. — 3. Aufl. S. 34 und 258.
17. Escallon, J. et Sicre, A. **1908**: Recherche de l'Indol dans les cultures microbiennes à l'aide du furfurol. — C. R. Soc. Biol. Tome II, S. 507—508.
18. Fazakas, N. **1926**: Durch welche Faktoren wird das Indolbildungsvermögen des Geflügelcholerabacillus bedingt. — Jber. d. Vet. Med. Jg. 46, II. Hälfte, S. 997.

19. Fischer, A. 1915: Hemmung der Indolbildung bei Bacterium coli in Kulturen mit Zuckerzusatz. — Biochem. Zschr. Bd. 70, S. 105. Ref. im Jber. d. Vet. Med. Jg. 35, S. 135.

20. Freund, M. und Lebach, G. 1903: Über Indolfarbstoffe. — Ber. d. dtsch. chem. Ges. Bd. 36, 1. S. 308.

21. Frieber, W. 1921: Über Selbstbereitung von bakteriologischer Peptonlösung und Trypsinbouillon zur Prüfung auf indolbildende Bakterien. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 86, S. 424—427.

22. Frieber, W. 1922: Beiträge zur Frage der Indolbildung und der Indolreaktionen sowie zur Kenntnis des Verhaltens indolnegativer Bakterien. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 87. S. 254—277.

23. Frohböse, H. 1926: Beitrag zum biochemischen Verhalten der bipolaren Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 100, S. 213—218.

24. Fröhner-Zwick 1925: Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere. — 9. Aufl. 2. Bd.

25. Glässer, K. 1929: Schweineseuche. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch d. path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 6, 2, S. 835—872.

26. Gotschlich, E. 1929: Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. — In: Kolle, Kraus, Uhlen-Handbuch der path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 1, 1, S. 155—156.

27. Grabert, K. 1904: Beitrag zur Biologie des Erregers der Schweinepest. — Diss. Gießen 35 Seiten, S. 18.

28. De Graaff, W. C. 1909: Untersuchungen über Indolbildung des Bacterium coli commune. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 49, S. 175—178.

29. Heim, L. 1922: Lehrbuch der Bakteriologie. — 7. Aufl.

30. Herzfeld, E. und Klinger, R. 1915: Quantitative Untersuchungen über den Indol- und Tryptophanumsatz der Bakterien. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 76, S. 1—12.

31. van Heelsbergen, T. 1929: Handbuch der Geflügelkrankheiten und der Geflügelzucht. —

32. Hottinger, R. 1913: Nachprüfung und Kritik der üblichen Bouillonbereitung. Einfache Herstellung einer billigen guten Nährlösung. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 67, S. 178—206.

33. Huber, E. 1910: Die Paratyphus-B ähnlichen Bakterien des Pferdedarmes. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 56, S. 1—28.

34. von Hutyra, F. 1929: Septicaemia haemorrhagica. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 6, 1, S. 483—528.

35. Hutyra-Marek 1922: Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. — 6. Aufl. Bd. 1.

36. Karlinski, J. 1898: Experimentelle Untersuchungen über Schweinepest und Schweineseuche. — Zschr. f. Hyg. Bd. 28, S. 273—408.

37. Kitasato, S. 1889: Die negative Indolreaktion der Typhusbazillen zu anderen ähnlichen Bazillenarten. — Zschr. f. Hyg. Bd. 7, S. 515—520.

38. Konrich 1910: Zur Bewertung des Bacterium coli im Wasser. — Klin. Jb. Bd. 23, S. 1—124.

39. Kovács, N. 1928: Eine vereinfachte Methode zum Nachweis der Indolbildung durch Bakterien. — Zschr. f. Immun. Forschg. Jg. 1928, Bd. 55, S. 311—315.

40. Legal, E. 1883: Über eine neue Azetonreaktion und deren Verwendbarkeit zur Harnuntersuchung. — Ref. Zbl. f. med. Wissensch. Jg. 21, S. 613—614.

41. Lehmann-Neumann 1927: Bakteriologie, insbesondere bakteriologische Diagnostik. — 7. Aufl. Bd. 2.

42. Lehr, E. 1928: Zur Brauchbarkeit des Indolnachweises nach Kovács. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 108, S. 209—212.

43. Lode, A. 1929: Bacillus pyocyaneus. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. 6, 1. S. 149—183.

44. Lösener, W. 1895: Über das Vorkommen der Bakterien mit den Eigenschaften der Typhusbazillen in unserer Umgebung ohne nachweisbare Beziehungen zu Typhuserkrankungen nebst Beiträgen zur bakteriologischen Diagnose des Typhusbazillus. — Arb. Reichs Ges. A. Bd. 11, S. 207—261.

45. Lücke 1928: Über ein neues flüssiges Peptonpräparat für die bakteriologische Praxis. — B. tierärztl. W. Bd. 44, S. 842—843.

46. Mc Farland, J. and Small, J. H. 1908: An improvement in the technic of the indol test. — Zbl. f. Bakt. Ref. Bd. 41, S. 316.

47. Magnusson, S. 1913: Pasteurellose beim Renntier. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der biologischen Eigenschaften der Pasteurella. — Zschr. f. Infekt. Kr. d. Haustiere 1914, Bd. 15, S. 61—92.

48. Manninger, R. 1928: Zur bakteriologischen Differentialdiagnose zwischen Geflügelcholera und Hühnertyphus. — D. tierärztl. W. Bd. 36, S. 870.

49. Manninger, R. 1929: Geflügelcholera. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorg. Bd. 6, 1, S. 529—562.

50. Mießner, H. und Wetzel, R. 1929: Infektiöse Aufzuchtkrankheiten der Tiere. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorg. 4. Aufl. Bd. 6, 1, S. 635—638.

51. Morelli, G. 1909: Über ein neues Verfahren zum Nachweis von Indol auf Nährsubstraten. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 50, S. 413—415.

52. Neisser, M. 1921: Über Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. — M. m. W. Bd. 68, S. 1384.

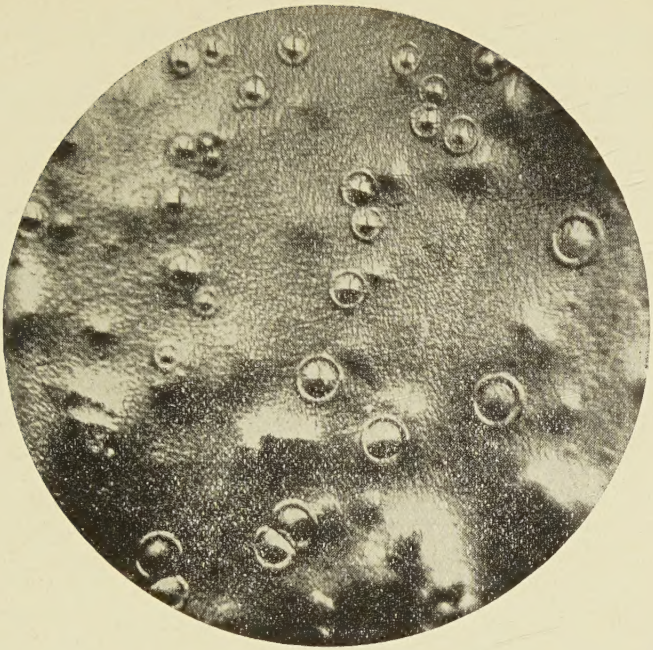
53. Neisser, M. 1928: Die Staphylokokken. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 6, 1, S. 437—508.

54. Neisser, M. und Frieber, W. 1923: Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. — In: Kraus-Uhlenmuth Handbuch der mikrobiol. Technik Bd. 2. S. 1245—1265.
55. Nissle, A. 1929: Die Colibakterien und ihre pathogene Bedeutung. — In: Kolle, Kraus, Uhlenhuth Handbuch der path. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. 6, 1, S. 415—448.
56. Nocard, E. et Leclainche, E. 1903: Les maladies microbiennes des animaux. — 3. Aufl. S. 6.
57. Norton, I. F. und Sawayer, M. V. 1921: Indol production by bacteria. — J. of Bact. 6, S. 471. Ref. Zbl. f. Bakt. Ref. I. Abt. 1923, Bd. 74, S. 131.
58. Olsen, O. 1927: Bakteriologisches Taschenbuch. — 28. Auflage S. 40—41.
59. Petri, R. I. 1890: Über die Verwertung der roten Salpetrigsäure-Indolreaktion zur Erkennung der Cholerabakterien. Arb. Reichs Ges. A. Bd. 6, S. 1—42.
60. Poppe, K. 1908/09: Beiträge zur vergleichenden Biologie des Bacillus suipestifer und des Bacillus paratyphi B. — Zschr. f. Infekt. Kr. d. Haustiere. Bd. 5, S. 42—80.
61. Porcher, Ch. et Panisset, L. 1909: Recherches de l'indol dans les bouillons microbiens. Sa présence dans la culture du cholera des poules. — C. R. Soc. Biol. T. 66, Nr. 14. Ref. Zbl. f. Bakt. Ref. I. Abt. Bd. 44, S. 633—634.
62. Pribram, E. und Plasay, St. 1921: Zur Systematik der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 85 Beiheft S. 117—121.
63. Pringsheim, E. 1919: Zur Verbilligung und Verschärfung der Indolreaktion. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 82. S. 318—320.
64. Rolle, M. 1928: Das Bacterium bipolare. — D. tierärztl. W. Bd. 36, S. 868—871.
65. Salkowski, E. 1887: Über das „Cholerarot" und das Zustandekommen der Cholerareaktion. — Virch. A. Bd. 110. S. 366—373.
66. Salus, G. 1922: Zur Phenol- und Indolbildung durch Bakterien und zum Nachweis dieser Körper in Kulturen. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 88, S. 103—106.
67. Schirop, H. 1908: Beitrag zur Biologie des Bacillus vitulisepticus und zur Immunisierung gegen die durch denselben hervorgerufene septische Pneumonie der Kälber. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 47. S. 307—342.
68. Schröter und Gutjahr 1911: Vergleichende Studien der Typhus-Coli-Dysenteriebakterien im Anschluß an eine kleine Ruhrepidemie in Mitteldeutschland. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 58, S. 577—623.
69. Selter 1909: Über Indolbildung durch Bakterien. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 51, S. 463—476.

70. Standfuß, R. 1928: Bakteriologische Fleischbeschau. — 2. Aufl. S. 61.
71. Standfuß, R. und Lehr, E. 1928: Zur Erkennung und Unterscheidung der Keime der Paratyphus-Enteritis-Gruppe. — B. tierärztl. W. Nr. 33, S. 536.
72. Steensma, F. A. 1906: Über den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 41. S. 255—298.
73. Takats, J. 1928: Über die Indolbildung durch Bacillus avisepticus in Kohlehydrate enthaltenden Nährböden. — Jber. d. Vet. Med. Jg. 48. S. 1306.
74. Tanaka, A. 1926: A comparative study of pasteurella cultures from different animals. — J. of. inf. dis. Bd. 38. S. 421—428.
75. Telle, H. und Huber, E. 1911: Kritische Betrachtungen über die Methoden des Indolnachweises in Bakterienkulturen nebst einem Beitrage zur Frage der Indolbildung durch Typhaceen. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 58. S. 70—79.
76. Thoemke, G. 1929: Zur Brauchbarkeit des Indolnachweises von Kovács. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 113, S. 520—522.
77. Tobey, E. N. 1908: A new Para-dimethylamidobenzaldehyd test for indol. — J. of med. Research Vol. 19, Ref. Zbl. f. Bakt. Ref. I. Abt. Bd. 44, S. 633.
78. Voges, O. und Proskauer, B. 1898: Beitrag zur Ernährungsphysiologie und zur Differentialdiagnose der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. — Zschr. f. Hyg. Bd. 28, S. 20—37.
79. Wölfel 1912: Über die Cholerarotreaktion. — Zschr. f. Hyg. Bd. 70. S. 409—416.
80. Wolters, L. 1929?: Neue Methoden des Indolnachweises. Beiträge zur Frage der Indolbildung verschiedener Bakterienarten. — Diss. Berlin 28 Seiten.
81. Zinno, A. 1894: Contributo allo studio dei processi biochimici dei batteri con speciale riguardo alla diagnosi differenziale fra varii microorganismi simiglianti. — Ref. Zbl. f. Bakt. Bd. 15. S. 428.
82. Zipfel, H. 1912: Zur Kenntnis der Indolreaktion. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 64. S. 65—80.
83. Zipfel, H. 1913: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Indolreaktion. — Zbl. f. Bakt. Orig. I. Abt. Bd. 67, S. 572—586.
84. Zwick und Zeller 1913: Über den infektiösen Abortus des Rindes. — Arb. Reichs Ges. A. Bd. 43, S. 1—154.

Lebenslauf.

Am 20. November 1895 wurde ich, Otto Hoffmann, als Sohn des Stadtobersekretärs Max Hoffmann in Stettin geboren, besuchte das Schiller-Realgymnasium meiner Vaterstadt, widmete mich nach der am 28. Februar 1914 abgelegten Reifeprüfung der Landwirtschaft, diente 1916/17 und war nach meiner Entlassung aus dem Heeresdienst als landwirtschaftlicher Beamter in der ehemaligen Provinz Posen und in den Provinzen Pommern und Brandenburg tätig. 1924/25 besuchte ich die Höhere Lehranstalt für praktische Landwirte (Seminar) zu Stettin. Nach bestandener Schlußprüfung entschloß ich mich zum Studium der Tierheilkunde, dem ich in Gießen (4 Semester, August 1927 Vorprüfung), Berlin (2 Semester) und Gießen (3 Semester) oblag. Hier erhielt ich am 29. Juli 1930 die Approbation.



48 Stunden alte Kolonien
des Bacterium avisepticum auf Traubenzuckerblutagarplatte.
Der Kolonie angehörige Wallbildung ohne Hämolyse.